云 南 植 物 研 究　1997; **19**(2): 184～190
Acta Botanica Yunnanica

抗寒剂和高油菜素内酯对高原水稻抗冷性的影响*

陈善娜 刘继梅 游慧灵 朱红俊 秦志宝 洪国民 沈云光
（云南大学生物系，昆明 650091）

摘要 抗寒剂 CR-4，高油菜素内酯 BR-120 分别浸种和喷洒在水稻二叶期叶面上，经低温（2±1℃）暗胁迫 2 d，根干重、根长和茎叶干重，叶片的超氧物歧化酶（SOD），过氧化物酶（POX）活性和还原性谷胱甘肽（GSH）含量皆高于对照。抗性强的丽粳低温胁迫时清除活性氧的效果较好。回温恢复（25±1℃，3000 lx、12h／d）1～5 d、抗性不同的两个品种的 SOD 和 POX 活性、GSH 和抗坏血酸（ASA）含量继续增加，丙二醛（MDA）含量都有下降。但抗性弱的秀子糯回温恢复时，清除活性氧的效果较好，POX 活性和 GSH 含量增加较为显著。CR-4 或 BR-120 处理在一定程度上提高了水稻幼苗活性氧清除系统的能力，增强了抗冷性。

关键词 抗寒剂，高油菜素内脂，水稻，抗冷性

THE EFFECT OF COLD RESISTANT AND HOMOBRASSINOLIDE ON THE CHILLING RESISTANCE OF PLATEAU RICE

Chen Shanna, Liu Jimei, You Huiling, Zhu HongJun,
Qin Zhibao, Hong Guomin, Shen Yunguang
(*Department of Biology, Yunnan University*, Kunming 650091)

Abstract The cold resistant CR-4 and homobrassinolide BR-120 were used by soaking seeds of rice and then spraying on the leaves at the diplophyllous stage, respectively. After chilling stress (2 ± 1℃) in dark for two days, the root system of the rice seedlings was more flourishing, the dry weight of root was heavier and the root length was longer than the untreated control sample. The dry weight of stem plus leaf increased and the activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POX), and the content of glutathine (GHS) increased notably. At chilling stress, the effect of scavenging activated oxygen in the variety with strong cold resistance was better. When the test samples regained room temperature for 1～5 days (25 ± 1℃, 3000 1x, 12 h / d), the activities of SOD and POX, and the content of GSH and ascorbic acid (ASA) in leaves of two varieties showing strong or weak cold resistance increased continuously. The content of molondialdehyde (MDA) (a product of lipid peroxidation of membrane) decreased. But in the period of regaining temperature, the effect of scavenging activated oxygen in the variety with weak cold resistance was better and the increases of activity of POX and content of GSH were more obvious. It is suggested that treatments of CR-4 and BR-120 increase the ability of scavenging activated oxygen in rice

* 云南省应用基础研究基金和云南省教委基金资助课题
1996-06-24 收稿，1996-11-04 接受发表

seedlings and strengthen the cold resistance of the varieties to some extent.

Key words Cold resistant, Homobrassinolide, Rice, Cold resistance

细胞膜是植物冷害的敏感部位，低温引起植物膜受损伤的现象已被许多学者证明，认为膜脂过氧化是造成膜受损伤的关键因素（刘鸿先等，1989）。抗寒剂 CR-4 是一种膜稳定剂（简令成等，1991），在不良条件下能提高抗逆性。高油菜素内脂 BR-120 是一种新型植物激素，其多种生理效应类似于 IAA 和 GA，可增强植物在某些不良条件下的抗性，提高水稻的抗冷性（潘兆梅等，1991）。云南高原水稻幼苗的抗冷性与其活性氧清除系统的关系已有报道（陈善娜等，1995）。本文以云南不同抗冷性水稻幼苗为材料，研究 CR-4，BR-120 对生长和叶片膜保护酶类活性及内源抗氧化剂含量的影响，为增强水稻幼苗抗冷性及抗寒剂的应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料 水稻（*Oryza stativa* L.）种子由云南省农科院中日合作育种课题提供，品种为抗冷性强的丽粳 2 号（Ligeng）和抗冷性弱的秀子糯（Xiuzinuo）。

抗寒剂 CR-4 由中国科学院植物研究所提供。高油菜素内脂 BR-120 由云南大学化学系合成。

1.2 方法 种子经消毒漂洗后，用体积比为 1∶100 的 CR-4 和 $10^{-1}\mu g/L$ BR-120 分别浸泡 24 h。催芽后，培养在盛有木村氏 B 培养液和珍珠岩的瓷盘中（25±1℃，3000 lx，12 h／d）到二叶期。再分别叶面喷洒 CR-4（体积比 1∶200）和 RB-120（$10^{-2}\mu g/L$）。幼苗分别罩以薄膜袋保温，置于 2±1℃ 冰箱，暗中低温胁迫 2 d，同时设正常对照为 100%，其余处理（低温，BR+低温，DR+低温）的值换算成正常对照的百分数表示。在低温胁迫期间及回温恢复 1，3，5 d（25±1℃，3000 lx，12 h／d）的上午 9 时取完全展开的二叶期中部叶为样品，测定生理生化指标；生长测定指标也为二叶期植株，每皿 120 株，每次测定 15 株的平均值。每一样品重复培养和测定均在 3 次以上。

丙二醛（MDA）含量按林植芳等（1984）的方法。抗坏血酸（ASA）和还原性谷胱甘肽（GSH）含量按曾韶西（1987）的方法。超氧物歧化酶（SOD）活性按 Giannopolitis 和 Ries（1977)的方法稍作改进。过氧化物酶（POX）活性和蛋白含量按张志良（1990）方法。

2 实验结果

2.1 BR-120，CR-4 处理对水稻幼苗生长的影响

将丽粳 2 号，秀子糯的水稻种子经 10^{-1}，10^{-2}，$10^{-3}\mu g/L$ 的 RB-120 和体积比为 1∶100，1∶200，1∶300 的 CR-4 浸种处理，生长到二叶期又叶面喷洒 1 d 后，低温胁迫 2 d，处理过的两个品种幼苗生长明显比未经 CR-4，BR-120 处理的低温胁迫 2 d 的材料生长好（表 1）。对根生长（根数、根长、根干重）最好的浓度 BR-120 是 $10^{-1}\mu g/L$，CR-4 是体积比为 1∶100。苗高随生长的延长而增高，回温后茎叶干重有所增加，从茎叶生长的外部形态，健壮度判断最好的浓度 BR-120 是 $10^{-2}\mu g/L$，CR-4 是体积比为 1∶200。CR-4 处理的根长，根干重大于 BR-120 处理的。从外部形态看，CR-4 处理的要短壮些，BR-120 处理的基叶生长要高大些，秀子糯的生长状况类似于丽粳 2 号，故表略。低温处理的秀子糯的叶片叶尖有少些黄化，两种药剂处理确实对不同抗性水稻秧苗低温后的生长有一定的促进作用。

表1 RB-120、CR-4处理对水稻幼苗（丽粳）生长的影响

Table 1 Effecte of BR-120 and CR-4 on the growth of rice seedling (Ligeng)

	BR-120处理		(μg/L)		CR-4处理		(体积比)	
浓 度	control	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	control	1:100	1:200	1:300
根长(cm)	A*3.1±0.13	4.6±0.13	4.3±0.15	4.1±0.14	3.8±0.13	5.0±0.15	4.6±0.14	5.1±0.12
	B*3.5±0.17	4.9±0.16	4.6±0.13	4.4±0.12	3.8±0.16	5.2±0.12	4.8±0.16	4.4±0.15
根 数	A 5.3±0.6	5.6±0.5	5.4±0.6	4.7±0.4	4.7±0.5	4.3±0.3	4.3±0.5	4.0±0.5
	B 5.3±0.5	5.7±0.4	5.8±0.3	5.3±0.2	4.7±0.4	4.7±0.4	4.4±0.7	5.1±0.6
茎叶干重	A 25.2±0.51	27.2±0.43	28.1±0.42	27.8±0.54	20.9±0.35	18.8±0.46	27.0±0.33	20.8±0.29
(mg)	B 25.7±0.43	27.6±0.36	28.9±0.45	28.7±0.39	21.5±0.27	20.3±0.38	22.4±0.51	21.7±0.31
根干重(mg)	A 6.4±0.46	7.2±0.52	6.8±0.38	6.6±0.52	8.8±0.21	11.1±0.30	8.9±0.32	9.3±0.28
(mg)	B 7.5±0.41	7.9±0.39	7.8±0.60	7.8±0.60	9.9±0.32	12.1±0.41	10.0±0.35	10.3±0.31

*A low temperature (2±1℃) for 2 days; *B After low temperature recovering for 5 days

2.2 RB-120, CR-4处理对叶片中酶促保护系统的影响

2.2.1 超氧物歧化酶（SOD）活性的变化 低温胁迫下（图1：A为丽粳，B为秀子糯，以下均同）未经处理的两个品种SOD酶活性都有下降。回温恢复时，抗性强的丽粳SOD活性有似增高，抗性弱的秀子糯SOD活性仍然下降，处理过的材料在低温胁迫时，丽粳的SOD活性明显增加，回温时虽有下降，但仍高于对照。秀子糯SOD活性有一定的变幅，其水平仍在对照之上，这说明BR-120或CR-4处理都能明显地提高两个水稻品种SOD活性，抗性强的丽粳SOD活性增加更为明显。

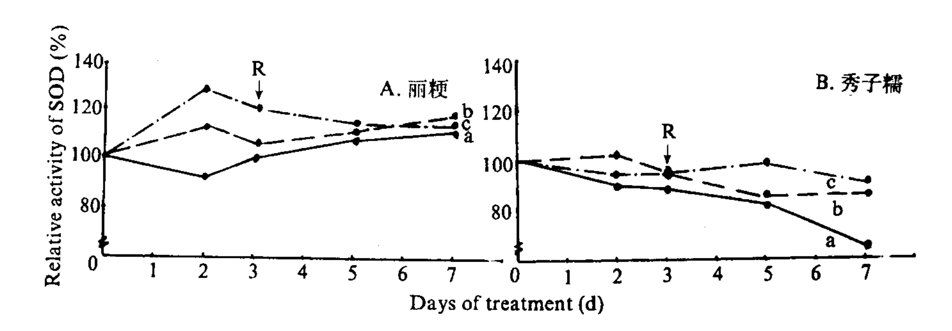


图1 BR-120和CR-4对低温2d和恢复1～5d天稻幼苗叶片中SOD相对活性的影响

a. 低温 b. BR-120+低温 c. CR-4+低温

Fig.1 Effect of BR-120 and CR-4 on relative activity of SOD in leaves of rice seedlings under low temperature for 2 days and after recovering for 1～5 days

a. low temperature b. BR-120+low temperature c. CR-4+low temperature

2.2.2 过氧化物酶（POX）活性的变化 低温胁迫下（图2）未经处理的两个品种的POX活性都下降，秀子糯下降较多。回温恢复后，两个品种的POX活性都逐渐增加。处理过的材料受低温胁迫时，POX活性下降较缓慢。回温5d后，两个品种的POX活性明显增加。结果表明BR-120和CR-4处理具有明显的促进POX活性的作用，尤以抗性弱的品种更为明显。

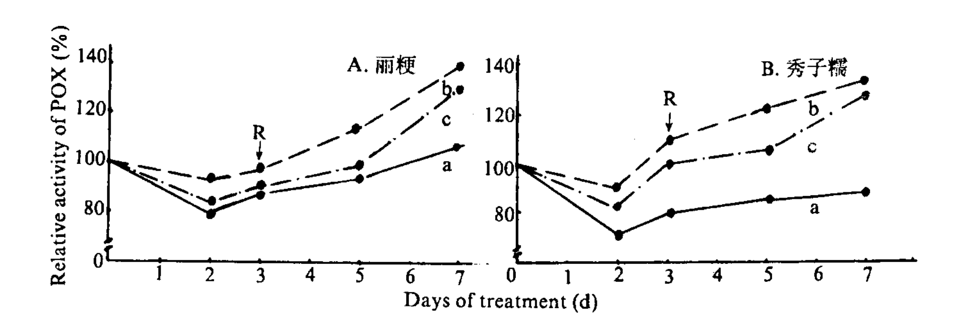


图 2　BR-120 和 CR-4 对低温 2d 和恢复 1～5d 水稻幼苗叶片中 POX 相对活性的影响

a. 低温　　b. BR-120+低温　　c. CR-4+低温

Fig.1　Effect of BR-120 and CR-4 on relative activity of POX in leaves of rice seedlings under low temperature for 2 days and after recovering for 1～5 days

a. low temperature　　b. BR-120+low temperature　　c. CR-4+low temperature

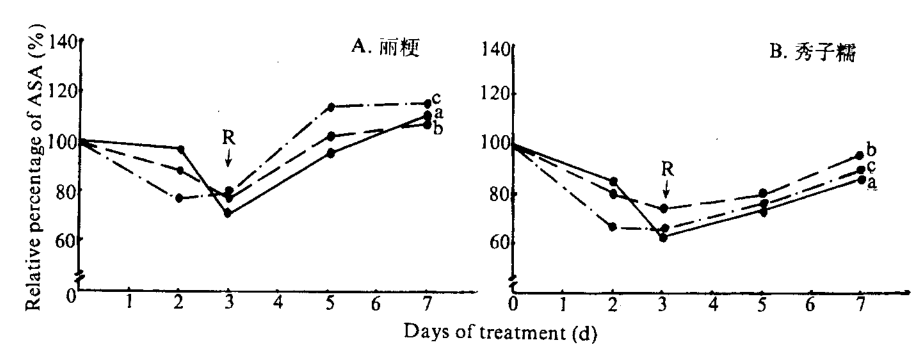


图 3　BR-120 和 CR-4 对低温 2d 和恢复 1～5d 水稻幼苗叶片中 ASA 相对含量的影响

a. 低温　　b. BR-120+低温　　c. CR-4+低温

Fig. 3　Effect of BR-120 and CR-4 on relative content of ASA in leaves of rice seedlings under low temperature for 2 days and after recovering for 1～5 days

a. low temperature　　b. BR-120+low temperature　　c. CR-4+low temperature

2.3　BR-120 和 CR-4 处理对叶片中非酶促保护系统的影响

2.3.1　抗坏血酸（ASA）含量的变化　低温胁迫下（图 3），未处理的两个品种 ASA 含量都下降，处理过的下降更多。回温恢复时，两个品种的 ASA 含量逐渐上升。处理过的丽粳回温 3d 时上升最高，回温 5d 时上升缓慢，均高于低温前的水平，CR-4 处理 ASA 含量最高。抗性弱的秀子糯上升较少，回温 5d 尚未达到低温前的水平，但 BR-120 和 CR-4 处理的仍高于未处理的低温后水平。

2.3.2　还原型谷胱甘肽（GSH）含量的变化　低温胁迫下（图 4），未经处理的两个品种 GSH 含量下降，处理过的材料 GSH 含量增加。回温恢复时，未处理的两个品种 GSH 含量有的下降，处理过的材料 GSH 含量明显增加。BR-120 处理的丽粳回温 3 d 时含量最高，CR-4 处理的秀子糯回温 5d 时含量最高。说明两种处理对 GSH 含量有明显的促进作用，对抗性弱的品种效果更好。

2.4　BR-120 和 CR-4 处理对叶片中膜脂过氧化产物——丙二醛（MDA）含量的影响

低温胁迫下（图 5），未处理的两个品种 MDA 含量都升高，回温恢复后，丽粳有所下降，秀子糯继续升高。处理过的丽粳在低温胁迫时 MDA 显著下降，秀子糯则上升。回温后处理过的 MDA 含量均低

于未处理过的。说明 BR-120，CR-4 处理对抗性强弱品种都有减缓膜脂过氧化产物 MDA 积累的作用。丽粳 BR-120 处理在低温胁迫当时效果明显，而秀子糯 CR-4 处理在回温恢复时更好。这与 SOD 活性的升高一致。

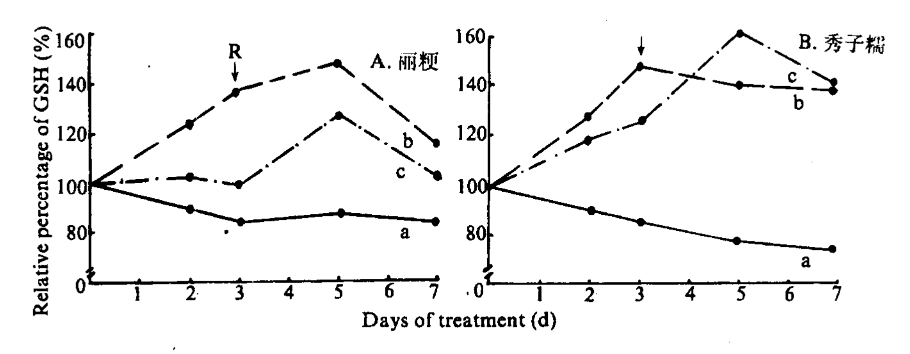


图 4 BR-120 和 CR-4 对低温 2d 和恢复 1～5d 水稻幼苗叶片中 GSH 相对含量的影响

a. 低温 b. BR-120+低温 c. CR-4+低温

Fig. 4 Effect of BR-120 and CR-4 on relative content of GSH in leaves of rice seedlings under low temperature for 2 days and after recovering for 1～5 days

a. low temperature b. BR-120+low temperature c. CR-4+low temperature

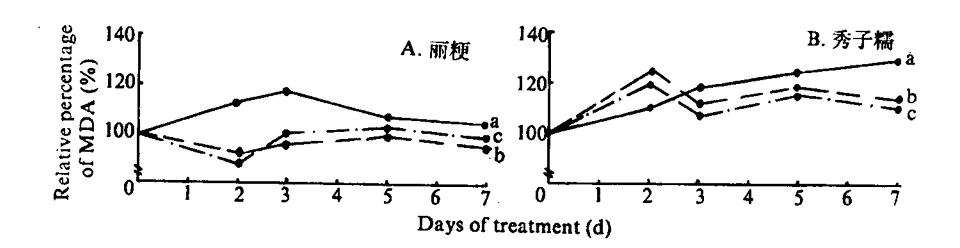


图 5 BR-120 和 CR-4 对低温 2d 和恢复 1～5d 水稻幼苗叶片中 MDA 相对含量的影响

a. 低温 b. BR-120+低温 c. CR-4+低温

Fig. 5 Effect of BR-120 and CR-4 on relative content of MDA in leaves of rice seedlings under low temperature for 2 days and after recovering for 1～5 days

a. low temperature b. BR-120+low temperature c. CR-4+low temperature

3 讨论

低温胁迫使植物体内防御活性氧的酶促和非酶促保护系统能力降低，致使细胞内自由基水平提高，膜脂过氧化作用加剧导致质膜伤害。云南抗冷性强的丽粳品种在长期进化过程中为适应高原气候，本身就形成较强的酶促保护系统，即 SOD，POX 活性较高，膜脂过氧化产物 MDA 含量积累较少的特点（陈善娜等，1995）。BR-120，CR-4 处理后，低温胁迫时仍保持较高的 SOD，POX 活性，并且 GSH 含量有明显增加，MDA 积累明显减少。回温恢复阶段，SOD，POX 活性仍高于低温对照，而非酶促系统的 GSH，ASA 含量均有明显增加，MDA 积累仍低于未用抗寒剂处理过的低温对照。说明 BR-120，CR-4 处理，在低温胁迫时，清除活性氧的效果较好，SOD，GSH 作用最大，并可一直持续到回温恢复阶段。

在回温恢复阶段，非酶促系统 GSH，ASA 的含量有较大幅度增加，可以说明这两种处理诱导了非酶促系统的抗冷效果。

抗冷性弱的最早来源于日本的秀子糯在 BR-120，CR-4 处理后，低温胁迫时，SOD，POX 活性，GSH 含量有一定程度的增加，MDA 含量也有增加，直到回温恢复阶段，POS 活性，GSH 含量有着明显的增加，MDA 积累比单用低温处理有一定程度的减少，这时才表现出较明显的清除活性氧的效果。说明 BR-120，CR-4 处理，主要在回温恢复阶段促进了非酶促系统的抗冷效果。这和抗冷性强的品种的反应一样。不同的是 BR-120，CR-4 处理，在低温恢复阶段促进抗冷性弱的品种的 POX 酶活性。这是否也说明来源不同的两类抗性不同的品种在 BR-120，CR-4 处理后在抗冷适应机制上的差异。

CR-4 是由多种稳定细胞膜系统的物质如 Ca^{2+}，脯氨酸，可溶性糖等配制筛选的一种抗寒剂（简令成等，1991）。外施和浸种使用的 CR-4，提高了植物组织中 Ca^{2+}和脯氨酸的含量。Ca^{2+}已被证实有保护膜结构的作用，Ca^{2+}作为磷酸根和蛋白质羟基间的连结桥梁，认为它有限制脂质过氧化的作用（李美如等，1995）。组织中 Ca^{2+}水平提高也可能对钙信使系统起了调节作用，激活了参与活性氧代谢的有关酶系，增强了清除自由基的能力。云南高原的高光强使稻苗叶绿体中产生$^-O_2$，$^\cdot$OH，而$^\cdot$OH 被认为是膜脂过氧化的启动者，$^\cdot$OH 还能作用于 DNA，RNA 的嘌呤或嘧啶，破坏生物大分子（郭绍川等，1996）。当$^\cdot$OH 作用于膜蛋白时，对膜的破坏就特别大。CR-4 中的脯氨酸具有显著的提高幼苗抑制$^\cdot$OH 引发的膜脂过氧化作用，也是$^\cdot$OH 和$^-O_2$的有效清除剂（郭绍川等，1996）。我们的结果说明 CR-4 处理确有减少脂质过氧化，有利于低温下水稻幼苗膜系统的结构与功能的稳定。

BR-120 有类似生长素和赤霉素的作用。植物生长素能刺激在完整细胞和膜囊泡中一些氧化酶〔如 NAD(P)H:O_2 氧化酶〕的活性，过氧化物酶是另一种能氧化胞外 NAD(P)H 的酶（熊新之等，1996）他们还认为质膜中氧化还原酶的存在，为利用胞质中丰富的具氧化还原电位的复合物中潜在的能量提供了基础，这些化合物包括 NADA，NADPH，谷胱甘肽和抗坏血酸。谷胱甘肽可稳定卡尔文循环中酶系统，有利于光合作用的进行，还可通过体内 ASA-GSH-NADPH 循环系统清除 H_2O_2、O_2^- 自由基（曾韶西等，1987）。BR-120 处理能明显提高 POX 酶活性和 GSH，ASA 的含量，可能就是通过激素类物质对活性氧清除系统中非酶促反应的调控，维持能量的代谢平衡来增强抗逆性，促进生长的。

抗寒剂 CR-4 和高油菜素内酯 BR-120 的应用，不但能减轻不同抗冷性的水稻幼苗在低温胁迫和回温恢复过程中的伤害作用，而且能促进幼苗根系和基叶的正常生长和健壮度。它们的作用方式，反应强度虽各有不同，可能是通过 Ca^{2+}及钙信使系统或激素类作用来调节抗冷力的形成，阻止水稻幼苗产生过多的自由基，或诱导形成较多的自由基清除剂来减轻膜脂过氧化作用，从而稳定膜的结构与功能，增强膜的防卫能力，以适应低温逆境的变化，促进生长。

参 考 文 献

刘鸿先，王以柔，郭俊彦，1989. 低温对植物的细胞膜系统伤害机理的研究. 中国科学院华南植物研究所集刊，第五集. 北京：科学出版社，31～38

李美如，刘鸿先，王以柔，1995. 植物细胞中的抗寒物质及其与植物抗冷性关系. 植物生理学通讯，**31**(5): 328～334

陈善娜，梁斌，张蜀君等，1995. 云南高原水稻幼苗的抗冷性与其活性氧清除系统的关系. 云南植物研究，**17**(4): 452～458

林植芳，李双顺，林桂株等，1984. 水稻叶片的衰老与超氧物歧化酶活性及脂质过氧化作用的关系. 植物学报，**26**(6): 605～615

张志良，1990. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社，154～155

郭绍川，1996. 杂交水稻抗性生理学与生物化学. 长沙：湖南科学技术出版社，10，152

焦新之，1996. 植物质膜中的氧化还原酶. 植物生理学通讯，**31**(1): 49～58

曾韶西，王以柔，刘鸿先，1987. 低温胁迫对水稻幼苗抗坏血酸含量的影响. 植物学报，**13**(4): 365～370

简令成，孙龙华，1991. 早稻育秧抗寒剂的研制. 植物学通报，**8**(3): 60～61

潘兆梅，1991. 新型植物生长物质-BR_3研究的进展. 植物学通报，**8**(3): 38～40

Gannoplitis C N, Ries S K, 1997. Spuperoxide dismutase Ⅱ, Purification and quantitative with watersoluble protein in seedlings. *Plant Physiol*, **59**: 315～318

* * * * * * * * * *

云 南 植 物 研 究 1997; **19**(2): 190
Acta Botanica Yunnanica

两种黄耆属植物的新名称

许奕华 刘全儒
(北京师范大学生物系，北京 100875)

NEW NAMES FOR TWO ASTRAGALUS PLANTS

Xu Yihua, Liu Quanru
(*Department of Biology, Beijing Normal University*, Beijing 100875)

关键词 黄耆属，仁昌黄耆，长序黄耆
Key words *Astragalus, A. naignichus, A. voburus*

李沛琼先生在《横断山豆科新分类群和新组合》一文（云南植物研究，11（3）：285～303，1989）发表了一些黄耆属新种和新组合，其中仁昌黄耆和长序黄耆的拉丁学名为后出的异物同名，根据《国际植物命名法规》，此二名为不合法名称，因此无效而予以废弃，今特立新名更正如下：

仁昌黄耆

Astragalus naignichus Y. H. Xu et Q. R. Liu, nom. nov.

Astragalus chingianus P. C. Li in Act. Bot. Yunnan. 11（3）：290，f. 5. 1989，non Pet-Stib.，1937～1938.

长序黄耆

Astragalus voburus Y. H. Xu et Q. R. Liu, nom. non.

Astragalus grubovii Cheng f. ex P. C. Li in Act. Bot. Yunnan. 11（3）：223. f. 8. 1989，non Scancz. 1974.

致谢 本文蒙贺士元教授、马金双教授指正。

1997-03-17 收稿